

REPUBLICA  
SOCIALISTA  
ROMANIA



CONSILIUL NATIONAL  
PENTRU  
ȘTIINȚA ȘI TEHNOLOGIE

OFICIUL DE STAT  
PENTRU  
INVENȚII ȘI MĂRCI

Grupa : 12

# (11) DESCRIEREA INVENȚIEI 88451

(61) Complementară la invenția nr. :

(21) Dosar nr. : 114769

(22) Data înregistrării : 05.06.84

(30) Prioritate convențională :

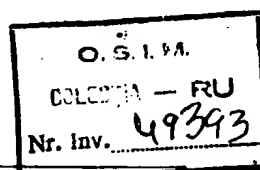
(32) Data :

(33) Țara :

(31) Certificat nr. :

(45) Data publicării : 30.01.86.

(51) Int. Cl. : C 07 D 501/60



(71) Solicitant :

Institutul de Cercetări  
Chimico-Farmaceutice,  
București

(72) Inventator :

Ing. Luca Ștefan  
Ing. Lixandru Tatiana,  
Iași

(73) Titular :

Înreprimărea de  
Antibiotice,  
Iași.

## (54) Derivați ai acidului 7-aminocefalosporanic și procedeu de preparare a acestora

Invenția se referă la derivați ai acidului 7 - aminocefalosporanic utili ca antibiotice și la un procedeu de preparare a acestora.

Se cunosc numeroși derivați de cefalosporină cu substituenți în pozițiile 3, respectiv 7. Astfel, se cunosc 7 - sulfonilfeniloxi sau tio - acetamidocefalosporine, având în poziția 3 o grupă acetoxi sau 2 - metil - 1,3,4 - tiadiazol - 5-iltio, substituite la grupa p-sulfonil cu un radical piroolidino, piperidino, morfolină, respectiv N - metilpiperazino, ietilamino sau diizopropilamino (brevete, R.S.R., nr. 81632, 81633). Acestea se obțin prin acilarea 7 - aminocefalosporinei respective cu clorura acidului sulfonilfeniloxi sau tio - acetic corespun-

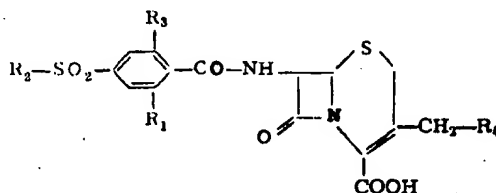
zător substituită, în mediu de hidrocarbură alifatică inferioară halogenată, la o temperatură inițială de 3...5°C, apoi la 20...25°C, în prezența unei baze.

În mod similar se obțin și 7 - sulfonilfenoxi - acetamidodezacetoxicefalosporinele substituite la grupa sulfonil cu dietilamino, diizopropilamino, piroldino, morfolino sau piperidino (brevet, R.S.R., nr. 85919).

Scopul invenției este de a extinde gama cefalosporinelor cu noi compuși.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în stabilirea asocierii noi a materiilor prime în anumite condiții de reacție.

Derivații, conform invenției, au structura chimică corespunzătoare formulei generale I :



(I)

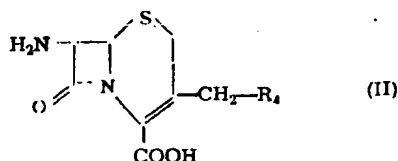
88451

PREȚUL LEI 16,85

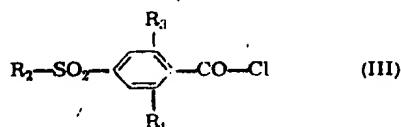
BEST AVAILABLE COPY

În care  $R_1$  reprezintă o grupă metil, metoxi sau un atom de clor atunci când  $R_2$  este un atom de hidrogen sau  $R_1$  și  $R_2$  reprezintă fiecare câte o grupă metoxi,  $R_3$  reprezintă o grupă dietilamino, dipropilamino, diizopropilamino, dibutilamino, morfolino, piperidino sau pirolidino,  $R_4$  reprezintă un atom de hidrogen, o grupă acetoxi sau 2 - metil - 5 - il - mercapto - 1,3,4 - tiadiazol și sînt substanțe solide cu maxime de absorbție în IR (KBr) cuprinse între 1750—1770  $\text{cm}^{-1}$  corespunzătoare grupei -CO-lactamice, între 1660—1678  $\text{cm}^{-1}$  corespunzătoare grupei -CO-amidice, între 1158—1180  $\text{cm}^{-1}$  corespunzătoare grupei -CO-carbonilice și cu o valoare  $R_f$  de 0,34...0,56.

Procedeeul de preparare a lor constă în aceea că o 7 - aminocefalosporină cu formula generală II :



În care  $R_4$  are semnificațiile de mai sus, se tratează cu un agent de acilare cu formula generală III :



În care  $R_1$ ,  $R_2$  și  $R_3$  au semnificațiile de mai sus, reacția avînd loc într-o hidrocarbură alifatică inferioară halogenată anhidră de preferință clorură de metilen anhidră ca solvent inert, inițial la o temperatură de 3...5°C, apoi la o temperatură de 15...20°C, în prezența unui acceptor de acid clorhidric ales dintre trietilamină și dimetilamină, după care produsul se izolează și purifică prin extracție la pH acid, prin procedee în sine cunoscute.

Se dau în continuare 3 exemple de realizare a invenției.

**Exemplul 1.** Acid 7 - (2 - clor - 4 - morfolinosulfonil - benzamido) - cefalosporanic

În 15 ml clorură de metilen se suspendă 1 g acid 7 - aminocefalosporanic (cu 95% puritate) și sub agitare se adaugă 1 ml trietilamină. Se agită pînă la solvire, după care soluția obținută se răcește la 3...5°C și se adaugă lent o soluție formată prin dizolvarea unui gram clorură a acidului 2 - clor - 5 - morfoli-

nosulfonilbenzoic în 15 ml clorură de metilen.

În după adăugarea clorurii acide se perfectează reacția de acilare 60 min la temperatura de 15...20°C. Se răcește soluția apoi la 0...5°C și se aduce pH-ul la valoarea 2...2,5 cu soluție HCl 5% după care se separă fazele.

Faza organică se spală cu 2 ml apă rece, după care faza organică se tratează cu 1 g cărbune activ și 10 g sulfat de sodiu anhidru și se filtrează.

Peste filtratul obținut se adaugă 2,3 ml soluție izopropanolică de 2 - etilhexanoat de sodiu 26,4%, după care se concentrează amestecul de 2 ori la vid.

Peste concentratul obținut se adaugă, sub agitare, 3—4 volume eter de petrol cînd are loc precipitarea sării de sodiu a cefalosporinei de culoare alb-crem. Se filtrează și se spală produsul cu 10 ml eter de petrol și se usucă la vid.

Se obțin 1,5 g produs cu puritate 90% apreciată cromatografic. Randament 66,6%.

**Exemplul 2.** Acid 7 - (2 - metil - 4 - piperidinosulfonil - benzamido) - 3 - (2 - metil - 1,3,4 - tiadiazol - 5 - il - tiometil) - cefalosporanic

În 15 ml diclormetan anhidru se suspendă 1,1 g acid 3 - (2 - metil - 1,3,4 - tiadiazol - 5 - il - tiometil) - cefalosporanic și se adaugă apoi 0,5 ml hexametildisilazan și 0,25 ml trimetildorsilan și în final 0,5 ml dimetilamină, sub răcire la 3...5°C.

Se agită pînă la solvire completă la temperatura camerei. Peste amestecul de reacție astfel obținut se introduce lent o soluție obținută prin dizolvarea unui gram clorură a acidului 4 - piperidinosulfonil - 2 - metilbenzoic în 15 ml diclormetan.

Se perfectează reacția de acilare 2 h la temperatura de 15...20°C, după care se acidulează amestecul la pH 1,5—2 cu o soluție de acid clorhidric 5%. Se decantează și se separă fazele, faza apoasă se spală cu încă 10 ml clorură de metilen.

Fazele organice reunite se spală cu un volum de apă rece, după care se decolorează cu 1 g cărbune activ și se anhidrizează cu 10 g sulfat de sodiu anhidru.

Se adaugă 2,3 ml soluție 26,4% 2-etilhexanoat de sodiu în izopropanol, se concentrează amestecul obținut de 2 ori la vid, după care, sub agitare, peste soluția obținută se adaugă 2 volume eter de petrol, cînd cristalizează sarea de sodiu a cefalosporinei sub formă de cristale albe. După filtrare, se spală produsul cu 10 ml eter de petrol și final se usucă la vid. Se obține 1 g produs cu puri-

tate 90%. Randament 44,6% față de 7-ACA (acid 7 - aminocefalosporanic).

**Exemplul 3.** Acid 7 - (2 - clor - 4 - diizopropilaminosulfonil - benzamido) - dezacetoxicefalosporanic

0,5 g acid 7 - aminodezacetoxicefalosporanic se suspendă în 10 ml diclormetan anhidru și se tratează cu 0,5 ml hexametildisilazana, după care amestecul obținut se refluxează timp de 90 min până la dizolvare completă.

Soluția obținută se răcește la 5...8°C, se adaugă 0,3 ml dimetilamină, după care se introduce lent, în picături, sub agitare o soluție formată din 1 g clorură a acidului 2 - clor - 5 - diizopropilaminosulfonilbenzoic și 10 ml diclormetan.

După adăugarea clorurii acide, se continuă agitarea la temperatura camerei timp de 90 min, apoi se răcește amestecul obținut la 3...5°C. Se adaugă 10 ml apă rece, se agită 10 min și se aduce pH-ul la valoarea 2 cu HCl 5%. Se separă fazele.

Faza organică inferioară se spală cu 10 ml apă rece, se decantează și se separă fazele.

Faza organică se tratează cu 10 g sulfat de sodiu anhidru și 1 g cărbune activ și se filtrează.

Soluția obținută se tratează cu 1,4 ml soluție izopropanolică de 2 - etilhexanoat de sodiu 26,4%, iar amestecul obținut se concentrează de 2 ori la vid, apoi se tratează sub agitare cu 2,5 volume eter de petrol și se agită 30 min.

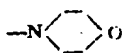
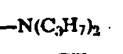


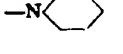
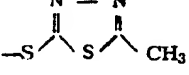
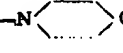
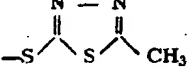
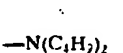
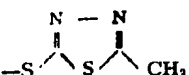

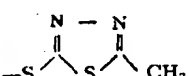
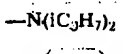
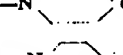
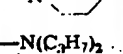
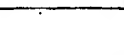
Cristalele obținute se filtrează la vid și se spală pe filtru cu 25 ml eter de petrol. Se usucă la vid.

Se obține 1 g produs cu puritatea 90% Randamentul față de 7-ADCA (acid 7 - aminodezacetoxicefalosporanic) este 75,7%.

Cefalosporinele obținute cu structura conform formulei I au fost caracterizate prin spectrele în IR (pastilă KBr), evidențiindu-se maximele caracteristice. Prin cromatografie în strat subțire (silicagel F-254, faza mobilă soluție NaCl 0,3 ml) a fost determinată valoarea R<sub>f</sub>.

În tabelul 1 sînt prezentate date fizico-chimice referitoare la cefalosporinele care fac obiectul prezentei invenții.

Tabelul 1

| Nr. crt. | R <sub>1</sub>     | R <sub>2</sub>  | R <sub>3</sub>     | R <sub>4</sub>  | Maxime abs. IR |            |                |                     | R <sub>f</sub> | Randament, % |
|----------|--------------------|---|--------------------|---|----------------|------------|----------------|---------------------|----------------|--------------|
|          |                    |   |                    |   | -CO-lactamic   | -CO-amidic | -CO-carboxilic | -SO <sub>2</sub> -N |                |              |
| 1.       | 2-Cl               |  | H                  | -OCOCH <sub>3</sub>   | 1770           | 1670       | 1600           | 1170                | 0,46           | 66,7         |
| 2.       | 2-OCH <sub>3</sub> |  | 6-OCH <sub>3</sub> | -OCOCH <sub>3</sub>   | 1770           | 1680       | 1590           | 1160                | 0,40           | 52,0         |
| 3.       | 2-CH <sub>3</sub>  |  | H                  | -OCOCH <sub>3</sub>   | 1760           | 1670       | 1600           | 1170                | 0,42           | 63,3         |
| 4.       | 2-Cl               |  | H                  | -OCOCH <sub>3</sub>   | 1770           | 1680       | 1610           | 1160                | 0,50           | 57,1         |
| 5.       | 2-CH <sub>3</sub>  |  | H                  |  | 1760           | 1660       | 1600           | 1160                | 0,35           | 44,6         |
| 6.       | 2-OCH <sub>3</sub> |  | 6-OCH <sub>3</sub> |  | 1760           | 1678       | 1610           | 1160                | 0,56           | 65           |
| 7.       | 2-Cl               |  | H                  |  | 1760           | 1660       | 1610           | 1180                | 0,50           | 83,7         |
| 8.       | 2-Cl               |  | H                  |  | 1758           | 1670       | 1600           | 1160                | 0,36           | 85           |
| 9.       | 2-Cl               |  | H                  | H   | 1758           | 1670       | 1600           | 1160                | 0,36           | 75,7         |
| 10.      | 2-CH <sub>3</sub>  |  | H                  | H   | 1760           | 1660       | 1600           | 1170                | 0,4            | 73           |
| 11.      | 2-OCH <sub>3</sub> |  | 6-OCH <sub>3</sub> | H   | 1758           | 1670       | 1570           | 1160                | 0,34           | 60,1         |
| 12.      | 2-Cl               |  | H                  | H   | 1750           | 1660       | 1600           | 1158                | 0,42           | 68,2         |

Prezenta invenție lărgeste gama derivaților acidului 7 - aminocefalosporanic prezentînd compuși cu acțiune antibiotică față de bacterii gram-pozitive și gram-negative.

Cefalosporinele cu formula generală I se obțin prin acilarea unei 7 - aminocefalosporine cu formula generală II cu un agent de acilare corespunzător formulei generale III, în mediu inert anhidru, format dintr-o hidrocarbură alifatică halogenată inferioară cum ar fi diclormetanul sau cloroformul, de preferință diclormetanul, la temperatură de 0...10°C, de preferință 3...5°C, în prezența unui acceptor de acid clorhidric cum ar fi dimetilamilina sau trietilamina, de preferință trietilamina.

Solubilizarea compusului II în mediul de reacție se face ca sare de trietilamoniu sau ester silil, în funcție de natura grupei R<sub>4</sub>, prin tratare cu trietilamină sau silani ca, de exemplu, trimetilclorsilan sau hexametildisilazan.

Cefalosporinele rezultate în urma reacției de acilare se izolează la pH acid, într-un solvent organic format din hidrocarbura alifatică clorurată în care a

avut loc reacția de acilare, de preferință în diclormetan și urmată de transformarea în sare de sodiu acceptabilă farmaceutic, cu ajutorul 2 - etilhexanoatului de sodiu sau acetatului de sodiu, de preferință 2 - etilhexanoat de sodiu în izopropanol.

Deoarece sărurile de sodiu ale cefalosporinelor cu formula I sînt solubile în clorură de metilen, cloroform sau acetona, izolarea acestora din mediul de reacție se face în procedeul conform invenției prin adăugarea unui nesolvent, cum ar fi alcoolul butilic, eterul etilic sau derivații petrolieri de tipul benzinei sau eterului de petrol, de preferință eterul de petrol.



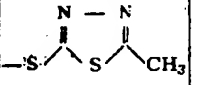


Activitatea antimicrobiană a unora dintre cefalosporinele cu formula generală I este prezentată în tabelul 2.

Valorile din tabel reprezintă concentrațiile minime inhibitorii (C.M.I.) față de microorganismele indicate.

Valorile au fost obținute prin metoda diluțiilor inseriate pe mediu solid față de 4 germeni test: *Bacillus subtilis* A, *Staphylococcus aureus* B, *Escherichia coli* C și *Klebsiella pneumoniae* D.

Tabelul 2

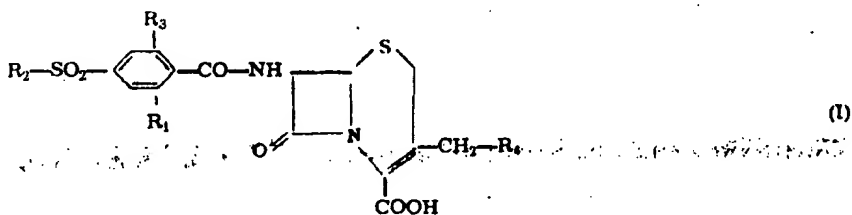
Activitatea antimicrobiană a unor cefalosporine (CMI în μg/ml)

| Nr. crt. | R <sub>1</sub>     | R <sub>2</sub>   | R <sub>3</sub>     | R <sub>4</sub>  | C.M.I., μg/ml |     |     |     |
|----------|--------------------|--|--------------------|---|---------------|-----|-----|-----|
|          |                    |  |                    |   | A             | B   | C   | D   |
| 1.       | 2-Cl               | -N  | H                  | -OCOCH <sub>3</sub>   | >50           | 10  | >50 | >50 |
| 2.       | 2-Cl               | -N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>  | H                  | -OCOCH <sub>3</sub>   | 10            | 10  | >50 | >50 |
| 3.       | 2-OCH <sub>3</sub> | -N  | 6-OCH <sub>3</sub> |  | >50           | >50 | >50 | >50 |
| 4.       | 2-OCH <sub>3</sub> | -N  | 6-OCH <sub>3</sub> | H   | >50           | >50 | >50 | >50 |
| 5.       | 2-CH <sub>3</sub>  | -N  | H                  | H   | >50           | >50 | >50 | >50 |
| 6.       | 2-Cl               | -N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>  | H                  | H   | >50           | >50 | >50 | >50 |

Invenția prezintă avantajul sintetizării unor derivați ai acidului 7 - aminocefalosporanic cu acțiune antibiotică față de bacterii gram pozitive și gram negative.

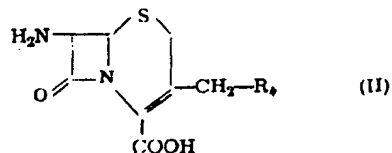
### Revendicări

1. Derivați ai acidului 7 - aminocefalosporanic, caracterizați prin aceea că au structura chimică corespunzătoare formulei generale I:



în care  $R_1$  reprezintă o grupă metil, metoxi sau un atom de clor atunci cînd  $R_2$  este un atom de hidrogen sau  $R_1$  și  $R_2$  reprezintă fiecare cîte o grupă metoxi,  $R_3$  reprezintă o grupă dietilamino, di-propilamino, diizopropilamino, dibutilamino, morfolino, piperidino sau pirolidino,  $R_4$  reprezintă un atom de hidrogen, o grupă acetoxi sau 2 - metil - 5 - il-mercapto - 1,3,4-tiadiazol și sînt substanțe solide cu maxime de absorbție în IR (KBr) cuprinse între 1750—1770  $\text{cm}^{-1}$  corespunzătoare grupei -CO—lactamice, între 1660—1678  $\text{cm}^{-1}$  corespunzătoare grupei -CO-amidice, între 1158—1180  $\text{cm}^{-1}$  corespunzătoare grupei -CO-carbonilice și cu o valoare  $R_f$  de 0,34...0,56.

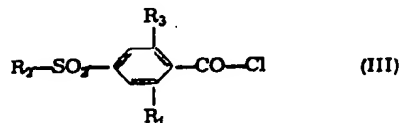
2. Procedeu de preparare a derivaților conform revendicării 1, caracterizat prin aceea că o 7 - aminocefalosporină cu formula generală II :



Președintele comișiei de invenții : Ing. Voicu Alexandra

Examinator : ing. Zugrăvescu Marina

în care  $R_1$  are semnificațiile de mai sus, se tratează cu un agent de acilare cu formula generală III :



în care  $R_1$ ,  $R_2$  și  $R_3$  au semnificațiile de mai sus, reacția avînd loc într-o hidrocarbură alifatică inferioară halogenată anhidră, de preferință clorură de metilen anhidră ca solvent inert, inițial la o temperatură de 3...5°C, apoi la o temperatură de 15...20°C, în prezența unui acceptor de acid clorhidric ales dintre trietilamină și dimetilamină, după care produsul se izolează și purifică prin extracție la pH acid, prin procedee în sine cunoscute.

Group: 12

(11) **Description of Invention**

**88451**

Socialist  
Republic of Romania



National Council for Science  
and Technology

(61) Complementary to invention No.

(21) File No.: 114769

(22) Registration date: 5 June 1984  
(30) Conventional priority  
(32) Date  
(33) Country  
(31) Certificate No.  
(45) Publication date: 30 January 1986

State Office for Inventions and  
Trademarks

(51) Int. Cl.<sup>3</sup>: C 07 D 501/60  
(71) Applicant: Chemical-Pharmaceutical Research Institute, Bucharest  
(72) Inventors: Eng. Luca Stefan, Eng. Lixandru Tatiana, Iasi  
(73) Assignee: Antibiotics Enterprise, Iasi

(54) **7-aminocephalosporanic Acid Derivatives and Process for Preparing Them**

The invention refers to 7-aminocephalosporanic acid derivatives useful as antibiotics and to a process for preparing them.

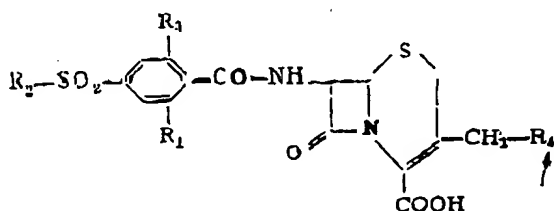
Numerous derivatives of cephalosporine with substituents in positions 3 and 7 are known, such as 7- or thio-aminocephalosporin containing in position 3 an acetoxy or 2-methyl-1,3,4-thiadiazole-5-ylthio group substituted in the p-sulfonyl group by a pyrrolidine, piperidine, morpholine, respectively, N-methylpiperazine, diethylamine, or diisopropylamine radical (Romanian patents 81632 and 81633). These are obtained by acylation of the respective 7-aminocephalosporine with the chloride of the sulfonylphenyl oxy- or corresponding thio-acetic acids substituted in a short-chain halogenated aliphatic hydrocarbon medium at an initial temperature of 3-5°C and then at 20-25°C in the presence of a base.

Also similarly obtained are 7-sulfonyl phenoxy-acetamido desacetoxyc cephalosporins substituted in the sulfonyl group by diethylamine, diisopropylamine, pyrrolidine, morpholine, or piperidine (Romanian patent 85919).

The object of the invention is to extend the range of cephalosporins with new compounds.

The problem solved by the invention consists in establishing new associations of raw materials under certain reaction conditions.

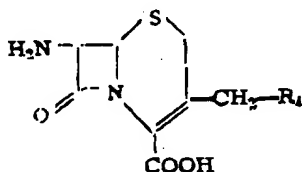
According to the invention, the chemical structure of the derivatives corresponds to the general formula I:



(I)

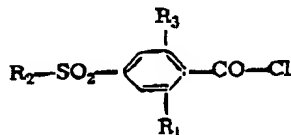
where  $R_1$  represents a methyl or methoxy group, or a chloride atom when  $R_3$  is a hydrogen atom or  $R_1$  and  $R_3$  each represent a methoxy group.  $R_2$  represents a diethylamine, dipropylamine, diisopropylamine, dibutylamine, morpholine, piperidine, or pyrrolidine group,  $R_4$  represents a hydrogen atom, an acetoxy or 2-methyl-5-[(thio)-mercapto-1,3,4-thiadiazole group and are solids with IR absorption maxima (KBr) between  $1750-1770\text{ cm}^{-1}$  corresponding to the -CO-lactamic group, between  $1660-1678\text{ cm}^{-1}$  corresponding to the -CO-amidic group, between  $1158-1180\text{ cm}^{-1}$  corresponding to the -CO-carboxylic group, and with an  $R_f$  value of 0.34-0.56.

Their preparation process consists of treating a 7-aminocephalosporin whose general formula is II:



(II)

and whose  $R_4$  has the connotations described above, with an acylation agent whose general formula is III:



(III)

where R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, and R<sub>3</sub> have the connotations described above, the reaction occurring in a short-chain halogenated aliphatic hydrocarbon medium, preferably anhydrous methylene chloride as inert solvent, at an initial temperature of 3-5°C and then at 15-20°C in the presence of a hydrochloric acid acceptor selected between triethylamine and dimethylaniline, after which the product is isolated and purified by extraction in acid pH, by means of well known processes.

Following are three examples of the implementation of the invention.

*Example 1. 7-(2-chlor-4-morpholinosulfonyl-benzamido)-cephalosporanic acid.*

1 g of 7-aminocephalosporanic acid (95% pure) is suspended in 15 ml of methylene chloride and 1 ml of triethylamine is added while under agitation. Agitation is continued until dissolution, after which the solution obtained is cooled to 3-5°C and a solution created by dissolving one gram of 2-chlor-5-morpholino-sulfonyl benzoic acid chloride in 15 ml of methylene chloride is slowly added.

After the addition of the acid chloride, the acylation reaction is carried out for 60 min. at a temperature of 15-20°C. The solution is then cooled to 0-5°C and the pH is brought to a value of 2-2.5 with a 5% HCl solution, after which the phases are separated.

The organic phase is washed with 2 ml of cold water, after which the organic phase is treated with 1 g of activated charcoal and 10 g of anhydrous sodium sulfate, and then filtered.

To the obtained filtrate are added 2.3 ml of 26.4% isopropanol solution of sodium 2-ethylhexanoate, after which the mixture is concentrated twice in vacuum.

3-4 volumes of petroleum ether are added to the obtained concentrate while under agitation when the white-cream colored cephalosporin sodium salt precipitates. The product is filtered and washed with 10 ml of petroleum ether, and dried in vacuum.

1.5 g of product with a chromatographically measured purity of 90% are obtained. The yield is 66.6%.

*Example 2. 7-(2-methyl-4-piperidine sulfonyl-benzamido)-3-(2-methyl-1,3,4-thiadiazole-5-il [translators' note:typo?]-thiomethyl)-cephalosporanic acid.*

1.1 g of 3-(2-methyl)-1,3,4-thiadiazole-5-il [translators' note:typo?]-thiomethyl)-cephalosporanic acid is suspended in 15 ml of anhydrous dichloromethane to which are then added 0.5 ml of hexamethyldisilazane and 0.25 ml of trimethylchlorosilane and lastly 0.5 ml of dimethylaniline, while cooled to 3-5°C.

Agitation is maintained until complete dissolution at room temperature. A solution obtained by dissolving one gram of 4-piperidine sulfonyl-2-methylbenzoic acid chloride in 15 ml of dichloromethane is slowly added into the reaction mixture thus obtained.

The acylation reaction is carried out for 2 hrs. at a temperature of 15-20°C, after which the mixture is acidulated to a pH of 1.5-2 with a 5% hydrochloric acid solution. After decanting, the phases are separated and the aqueous phase is washed with an additional 10 ml of methylene chloride.



The joint organic phases are washed with a volume of cold water, after which they are discolored with 1 g of activated charcoal and anhydrated with 10 g of anhydrous sodium sulfate.

2.3 ml of 26.4% sodium 2-ethylhexanoate in isopropanol are added, the mixture is concentrated twice in vacuum, after which 2 volumes of petroleum ether are added while under agitation when the cephalosporin sodium salt crystallizes in the form of white crystals. After filtering, the product is washed with 10 ml of petroleum ether and finally dried in vacuum. 1 g of product with a purity of 90% is obtained. The yield of 7-ACA (7-aminocephalosporanic acid) is 44.6%.

*Example 3. 7-(2-chlor-4-diisopropylamine sulfonyl-benzamido)-desacetoxy cephalosporanic acid.*

0.5 g of 7-aminodesacetoxy cephalosporanic acid is suspended in 10 ml of anhydrous dichloromethane and is treated with 0.5 ml of hexamethyl disilazane after which the obtained mixture is refluxed for 90 minutes until complete dissolution.

The obtained solution is cooled to 5-8°C, 0.3 ml of dimethylaniline is added, after which a solution composed of 1 g of 2-chlor-5-diisopropylamine sulfonyl benzoic acid chloride in 15 ml of dichloromethane is introduced slowly, drop by drop, while under agitation.

After addition of the acid chloride, agitation is continued at room temperature for 90 minutes, and then the mixture obtained is cooled to 3-5°C. 10 ml of cold water are then added, agitation is maintained for 10 minutes, and the pH is brought to a value of 2 with a 5% HCl solution. The phases are then separated.

The short-chain organic phase is washed with 10 ml of cold water, decanted, and the phases are separated.

The organic phase is treated with 10 g of anhydrous sodium sulfate and 1 g of activated charcoal, and filtered.

The solution thus obtained is treated with 1.4 ml of an isopropanol solution of 26.4% sodium 2-ethylhexanoate, the obtained mixture is concentrated twice in vacuum, after which it is treated while under agitation with 2.5 volumes of petroleum ether.


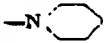
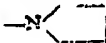

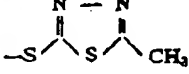

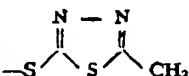
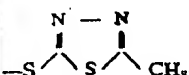

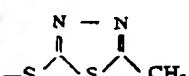
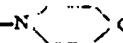
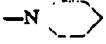
The crystals obtained are filtered in vacuum and washed on the filter with 25 ml of petroleum ether. They are dried in vacuum

1 g of product with a purity of 90% is obtained. The yield of 7-ACA (7-aminocephalosporanic acid) is 75.7%.

The cephalosporins of the formula I structure were characterized with IR spectra (KBr pellet) that exhibited characteristic maxima. Thin-layer chromatography (silicagel F-254, 0.3 ml of NaCl mobile phase solution) was used to determine the R<sub>f</sub> value.

Table 1 presents the physicochemical data of the cephalosporins that are the object of the present invention.

Table 1

| Nr. crt. | R <sub>1</sub>     | R <sub>2</sub>  | R <sub>3</sub>     | R <sub>4</sub>  | IR absorption maxima |                |                     |                    | R <sub>f</sub> | yield % |
|----------|--------------------|---|--------------------|---|----------------------|----------------|---------------------|--------------------|----------------|---------|
|          |                    |   |                    |   | -CO-lacta-<br>mic    | -CO-am-<br>dic | -CO-car-<br>boxylic | -SO <sub>2</sub> N |                |         |
| 1.       | 2-Cl               |    | H                  | -OCOCH <sub>3</sub>   | 1770                 | 1670           | 1600                | 1170               | 0,46           | 66,7    |
| 2.       | 2-OCH <sub>3</sub> | -N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>                                     | 6-OCH <sub>3</sub> | -OCOCH <sub>3</sub>   | 1770                 | 1680           | 1590                | 1160               | 0,40           | 52,0    |
| 3.       | 2-CH <sub>3</sub>  |    | H                  | -OCOCH <sub>3</sub>   | 1760                 | 1670           | 1600                | 1170               | 0,42           | 63,3    |
| 4.       | 2-Cl               |    | H                  | -OCOCH <sub>3</sub>   | 1770                 | 1680           | 1610                | 1160               | 0,50           | 57,1    |
| 5.       | 2-CH <sub>3</sub>  |    | H                  |    | 1780                 | 1660           | 1600                | 1160               | 0,35           | 44,6    |
| 6.       | 2-OCH <sub>3</sub> |    | 6-OCH <sub>3</sub> |    | 1760                 | 1678           | 1610                | 1160               | 0,56           | 65      |
| 7.       | 2-Cl               | -N(C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ) <sub>2</sub>                                     | H                  |   | 1760                 | 1680           | 1610                | 1180               | 0,50           | 83,7    |
| 8.       | 2-Cl               |  | H                  |  | 1758                 | 1670           | 1600                | 1160               | 0,36           | 85      |
| 9.       | 2-Cl               | -N(iC <sub>3</sub> H <sub>7</sub> ) <sub>2</sub>                                    | H                  | H   | 1753                 | 1670           | 1600                | 1160               | 0,36           | 75,7    |
| 10.      | 2-CH <sub>3</sub>  |  | H                  | H   | 1760                 | 1660           | 1600                | 1170               | 0,4            | 73      |
| 11.      | 2-OCH <sub>3</sub> |  | 6-OCH <sub>3</sub> | H   | 1758                 | 1670           | 1570                | 1160               | 0,34           | 60,1    |
| 12.      | 2-Cl               | -N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>                                     | H                  | H   | 1750                 | 1660           | 1600                | 1158               | 0,42           | 68,2    |

The present invention expands the range of 7-aminocephalosporanic acid derivatives by presenting compounds with antibiotic action toward *gram*-positive and *gram*-negative bacteria.

Cephalosporins of the general formula I are obtained through the acylation of a 7-aminocephalosporin of the general formula II with an acylation agent corresponding to the general formula III, in an inert anhydrous medium composed of a short-chain halogenated aliphatic hydrocarbon such as dichloromethane or chloroform, preferably dichloromethane, at a temperature of 0-10°C, preferably 3-5°C, in the presence of a hydrochloric acid acceptor such as dimethylaniline or triethylamine, preferably triethylamine.



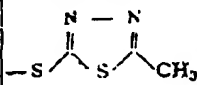


Compound II is solubilized in the reaction medium as triethylammonium salt or silyl ester, as a function of the nature of group R<sub>4</sub>, by treating with triethylamine or silanes, such as for instance trimethylchlorosilane or hexamethyldisilazane.

The cephalosporins resulting from the acylation reaction are isolated under acid pH in an organic solvent composed of the chlorinated aliphatic hydrocarbon in which the acylation reaction occurred, preferably in dichloromethane, followed by a transformation in a pharmaceutically acceptable sodium salt, with the aid of sodium 2-ethylhexanoate or sodium acetate, preferably sodium 2-ethylhexanoate in isopropanol.

Since the sodium salts of formula I cephalosporins are soluble in methylene chloride, chloroform, or acetone, their isolation from the reaction medium is performed by the addition of a nonsolvent such as butyl alcohol, ethyl ether, or petroleum derivatives of the benzene or petroleum ether type, preferably petroleum ether.

The antimicrobial action of some of the cephalosporins of the general formula I is presented in Table 2.

Table 2. Antimicrobial activity of some cephalosporins (CMI in  $\mu\text{g/ml}$ )

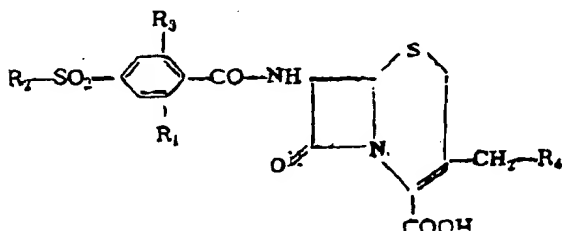
| Nr. crt. | $R_1$             | $R_2$   | $R_3$             | $R_4$   | C.M.I. $\mu\text{g/ml}$ |     |     |     |
|----------|-------------------|---|-------------------|---|-------------------------|-----|-----|-----|
|          |                   |   |                   |   | A                       | B   | C   | D   |
| 1.       | 2-Cl              | $-\text{N}$  | H                 | $-\text{OCOCH}_3$   | >50                     | 10  | >50 | >50 |
| 2.       | 2-Cl              | $-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$   | H                 | $-\text{OCOCH}_3$   | 10                      | 10  | >50 | >50 |
| 3.       | 2- $\text{OCH}_3$ | $-\text{N}$  | 6- $\text{OCH}_3$ |  | >50                     | >50 | >50 | >50 |
| 4.       | 2- $\text{OCH}_3$ | $-\text{N}$  | 6- $\text{OCH}_3$ | H   | >50                     | >50 | >50 | >50 |
| 5.       | 2- $\text{CH}_3$  | $-\text{N}$  | H                 | H   | >50                     | >50 | >50 | >50 |
| 6.       | 2-Cl              | $-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$   | H                 | H   | >50                     | >50 | >50 | >50 |

The values in the table represent the minimum inhibitory concentrations (C.M.I.) against the indicated microorganisms.

The values were obtained by the method of serial dilutions on solid medium with respect to 4 test germs: *Bacillus subtilis* A, *Staphylococcus aureus* B, *Escherichia coli* C, and *Klebsiella pneumoniae* D.

## Claims

1. Derivatives of 7-aminocephalosporanic acid, characterized in that they have a chemical structure corresponding to the general formula I:

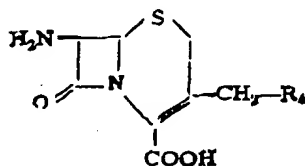


(I)

where  $R_1$  represents a methyl or methoxy group, or a chloride atom when  $R_3$  is a hydrogen atom or  $R_1$  and  $R_3$  each represent a methoxy group.  $R_2$  represents a diethylamine, dipropylamine, diisopropylamine, dibutylamine, morpholine, piperidine, or pyrrolidine group,  $R_4$  represents a

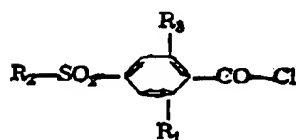
hydrogen atom, an acetoxy or 2-methyl-5-yl [translators' note: typo for ilthio?]-mercapto-1,3,4-thiadiazole group and are solids with IR absorption maxima (KBr) between 1750-1770  $\text{cm}^{-1}$  corresponding to the -CO-lactamic group, between 1660-1678  $\text{cm}^{-1}$  corresponding to the -CO-amidic group, between 1158-1180  $\text{cm}^{-1}$  corresponding to the -CO-carbonylic group, and with an  $R_f$  value of 0.34-0.56.

2. Preparation process for the derivatives according to claim 1, characterized in that a 7-aminocephalosporin whose general formula is II:



(II)

where  $R_4$  has the connotations described above, is treated with an acylation agent of the general formula III:



(III)

where  $R_1$ ,  $R_2$ , and  $R_3$  have the connotations described above, the reaction occurring in a short-chain halogenated aliphatic hydrocarbon medium, preferably anhydrous methylene chloride as inert solvent, at an initial temperature of 3-5°C and then at a temperature of 15-20°C in the presence of a hydrochloric acid acceptor selected between triethylamine and dimethylaniline, after which the product is isolated and purified by extraction in acid pH, by means of well known processes.

President of the Inventions Commission: Eng. Voicu Alexandra  
Examiner: Eng. Zugravescu Marina

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**